

平成 30 年 6 月 21 日現在

機関番号：22701

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2015～2017

課題番号：15K05545

研究課題名(和文) 水素ラジカルに対する有機材料の耐性・劣化の分子機構

研究課題名(英文) Molecular mechanism for the resistance and degradation of organic materials to hydrogen radical

研究代表者

高山 光男 (Takayama, Mitsuo)

横浜市立大学・生命ナノシステム科学研究科(八景キャンパス)・教授

研究者番号：10328635

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,700,000円

研究成果の概要(和文)：本研究では、高出力紫外光ランプを備え水素分子から水素原子の解離生成を可能とする装置を開発した。性能確認のための特性反応系を確立するために、生成した水素原子をフッ素樹脂表面に作用させ、気相フッ酸(HF)の生成を大気圧イオン化質量分析計を用いて確認した。すなわち大気イオンとのHF付加反応体の検出に成功した。ケブラー繊維に水素ラジカルを作用させ、その分解生成物の検出を試みたが、分解物はほとんど観測されなかった。これは、ケブラー繊維は分子内水素結合によって水素ラジカル付加部位であるカルボニル酸素がプロテクトされているため、水素ラジカルに耐性があると判断された。

研究成果の概要(英文)：Hydrogen atoms (H) were generated from hydrogen gas (H<sub>2</sub>) by using a homemade H atom generator consisted of an ultraviolet light source incorporating a deuterium lamp and a reaction tube made of polycarbonate, under atmospheric pressure conditions. In order to confirm the generation of hydrogen atoms, resulting hydrogen atoms were irradiated onto the surface of a tip of polytetrafluoroethylene and a reaction product hydrogen fluoride (HF) were detected by an atmospheric pressure corona discharge ionization mass spectrometer. In order to examine the influence of hydrogen atoms on the resistance and degradation characteristics of an aramide synthetic polymer, Kevlar, the hydrogen atoms were irradiated to Kevlar fibers. However, any degradation products were not detected, because the hydrogen-bond networks of Kevlar protect the carbonyl oxygens from the attack of hydrogen atoms.

研究分野：質量分析

キーワード：水素ラジカル 質量分析

1. 研究開始当初の背景

水素は、環境負荷の少ない燃料電池等、次世代エネルギーとして期待される一方、その維持管理には特有の困難を伴う。水素と接触相互作用する金属材料は脆性劣化を伴うことが19世紀から知ら、その原因・機構はいまだに解明されておらず、現在でも喫緊の解決課題とされている。一方、金属に代わり軽量・強靱性・柔軟性を特徴とする機能性有機材料の開発は、日常生活のみならず最先端技術や宇宙開発においても希求されており、その耐久性や劣化の原因にも注意が払われている。例えば、金属にも勝る強度をほこるアラミド系繊維では、耐性に与える各種因子(熱、紫外線、薬品など)の影響が子細に公開されている。一方で申請者はこれまで超音波や紫外レーザーを用いて瞬時に水素ラジカルを発生させ、水溶液中または真空中でタンパク質などに作用させることで特異的な分解反応を生じさせることに成功してきた。その成果は、新規の加水分解として機構を解明し、アミノ酸配列解析など構造情報の獲得に応用してきた。同時に、水素ラジカルが特異的に相互作用する官能基部位の特定とその反応モデルを提出してきた。これらの成果背景の下に本研究に取り組んだ。

2. 研究の目的

本研究は、水素ラジカルと有機材料との相互作用および反応特性、特に劣化反応の解明を目的とする。水素は、航空機やエンジンなどの金属材料に深刻な脆性劣化を引き起こすため、燃料電池用水素ステーションなどの配管には強靱な有機系ポリマーが用いられる。しかし、水素の有機材料に対する影響研究はゴム製品に限られている。本研究では、申請者のこれまでの水素ラジカルによる真空中、水溶液中での生体ポリマー(ペプチドおよびタンパク質)の分解特性の研究に基づき(図1)、水素、特に水素ラジカルに対する有機材

料の耐性および劣化の反応機構を解明する。

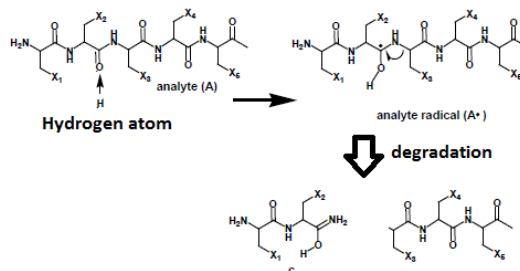


図1 水素原子の付加によるタンパク質ラジカルの生成とラジカル分解反応(成果論文4)

対象有機材料として、タンパク質主鎖のアミド鎖構造と類似構造を有するアラミド系ポリマーを選択する。アラミド系ポリマーを分子材料とするケブラー繊維の強靱な性質は、タンパク質のターン二次構造と類似の分子内水素結合ネットワークに由来すると考えられている(図2、3)。水素ラジカルが水素結合ネットワークに侵入してラジカル種を生成しケブラーの劣化をもたらす可能性がある。

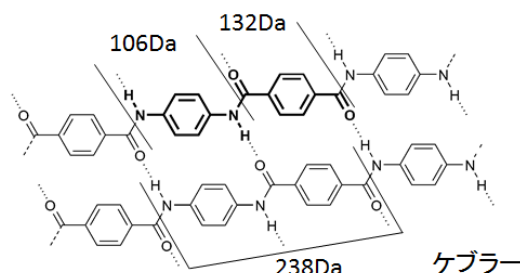


図2 タンパク質のターン構造と同様の分子内水素結合ネットワークを構成するケブラー繊維

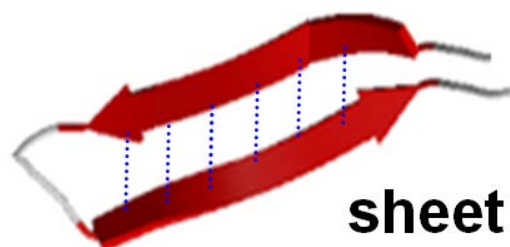


図3 タンパク質のターン構造を形成する分子内水素結合

実際、ペプチドやタンパク質に水素ラジカ

ルを作用させると、水素結合ネットワークを形成しているアミド鎖のカルボニル酸素に水素ラジカルが付加し、カルボニル炭素部位がラジカル（不対電子）となりラジカル誘起の速い分解が進行することを報告している（図1，成果論文4、およびその論文の参考文献に記載済み）。本分解反応と類似の反応がケブラーでも起こるか否かを確認することを目的とした。

### 3. 研究の方法

本研究では“水素ラジカル発生器”を製作し、アラミド系繊維など新素材開発に連なる有機材料の水素ラジカルに対する耐性・劣化を構造化学的に分析評価しその反応機構を解明する。分解物の検出評価には、大気圧下での微量分析を可能とする大気圧イオン化質量分析装置を使う。

### 4. 研究成果

水素ラジカル発生装置(図4、図5)を製作し、性能確認のために生成したと考えられる水素原子をフッ素樹脂表面に作用させ、気相フッ酸 (HF) の生成を確認した(図6)。すなわち、大気圧下でのフッ酸生成を確認するために、微量検出が可能な大気圧イオン化質量分析計を用いた大気イオン Y と HF 付加反応体 Y(HF)<sub>n</sub> の検出に成功した(図7、8，成果論文9)。本研究成果は発明届けによって特許申請を行った(特願 2015-111987、特開 2016-222508)。さらに大気圧下でのフッ酸(HF)検出を水素ラジカル生成の特性反応系としてその性能評価を実施し、大気中での水素ラジカルの移動距離は約 140mm 程度であると評価された。

さらにフタルアミド系樹脂であるケブラー繊維に水素ラジカルを作用させ、その分解生成物の検出を試みたが、分解物はほとんど観測されなかった。これは、ケブラー繊維は分子内水素結合によって水素ラジカル付加部位であるカルボニル酸素がプロテクトされてい

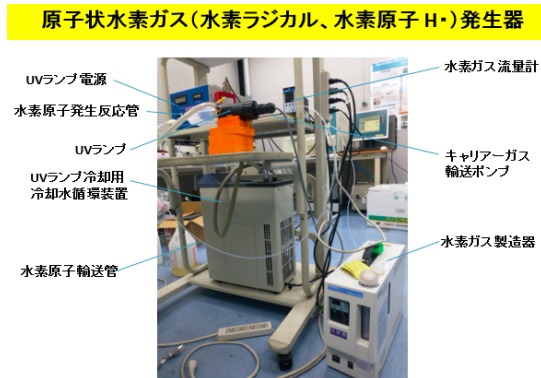


図4 水素原子発生装置の概観

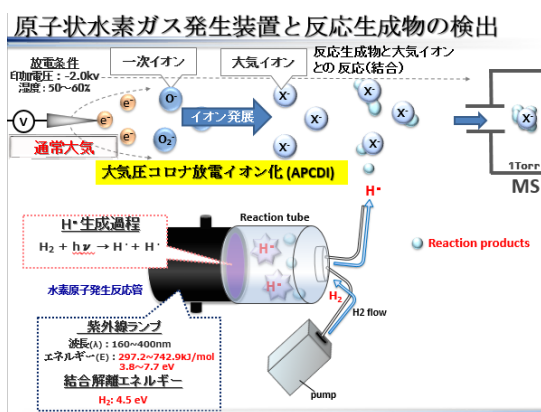


図5 大気圧下での水素原子発生装置と生成物検出用の大気圧イオン源を結合した質量分析計 (MS) の模式図

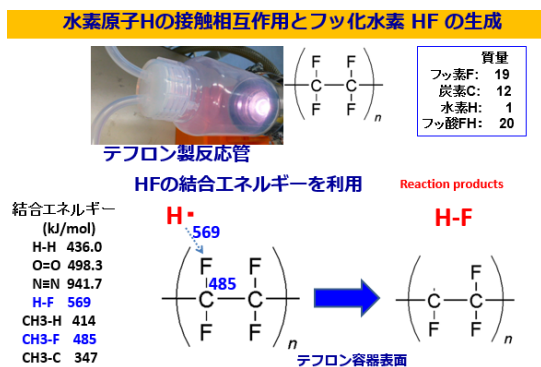


図6 水素原子発生評価の原理

るため、水素ラジカルに対して耐性があると判断された。さらにフッ酸生成量を評価するため、フッ酸クラスターの生成を大気圧イオン化質量分析計で確認したところ、フッ酸の三量体まで結合した HF クラスターが生成したこと確認した。しかし水素ラジカルの発生と反応性については、その評価システムの構

築を含めまだ未確定なことが多いと判断され、さらに研究を継続中である。

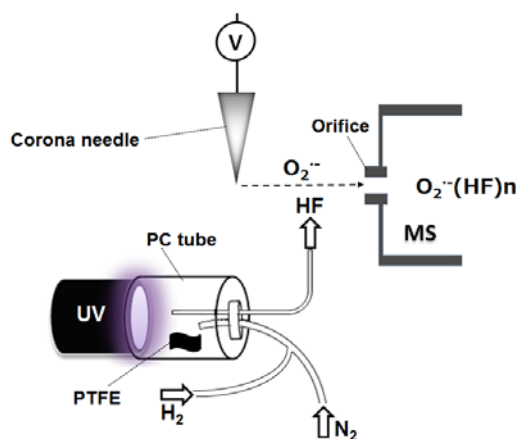


図7 フッ酸(HF)生成と質量分析の概念図

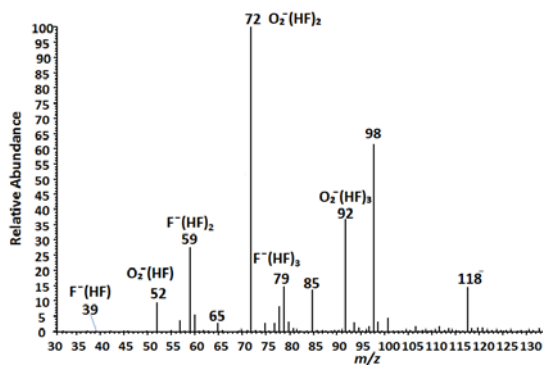


図8 大気圧イオン源質量分析計によるフッ酸の検出 (成果論文6)

#### 5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計 9 件)

1. N. Sugasawa, T. Kawase, M. Oshikata, R. Imuro, A. Motoyama, M. Takayama, Formation of c- and z-ions due to preferential cleavage at the N-C bond of Xxx-Asp/Asn residues in negative-ion CID of peptides, *Int. J. Mass Spectrom.*, 383-384, 38-43 (2015).
2. K. Sekimoto, R. Gonda, M. Takayama, Effects of  $H_3O^+$ ,  $OH^-$ ,  $O_2^-$ ,  $NO_x^-$  and  $NO_x$  for *Escherichia coli* inactivation in atmospheric pressure DC corona discharges, *J. Phys. D: Appl. Phys.* 48, 305401 (9pp) (2015).

3. S. Sekiya, K. Nagoshi, S. Iwamoto, and K. Tanaka, M. Takayama, Timeframe Dependent Fragment Ions observed in In-Source Decay Experiments with beta-Casein using MALDI MS, *J. Am. Soc. Mass Spectrom.*, 26, 1588-1598 (2015). DOI: 10.1007/s13361-015-1173-3.
4. M. Takayama, MALDI In-Source Decay of Protein: The Mechanism of c-ion Formation, *Mass Spectrom.* (Tokyo), 2016; DOI:10.5702/massspectrometry.A0044.
5. K. Nagoshi, K. Inatomi, I. Osaka and M. Takayama, Photochemical Reactions of Aminonaphthols Caused by Laser Desorption/Ionization, *Mass Spectrom.* (Tokyo), 2016; 5(1): A0048. DOI:10.5702/massspectrometry.A0048.
6. K. Sekimoto, M. Sakakura, T. Kawamukai, H. Hike, T. Shiota, F. Usui, Y. Bando and M. Takayama, Improvement in ionization efficiency of direct analysis in real time-mass spectrometry (DART-MS) by corona discharge, *Analyst*, 141, 4879-4892 (2016).
7. N. Sato, K. Sekimoto and M. Takayama, Ionization capabilities of hydronium ions and high-electric fields produced by atmospheric pressure corona discharge, *Mass Spectrom.* (Tokyo), 2016; DOI:10.5702/massspectrometry.S0067.
8. M. Yamakoshi and M. Takayama, Oxidative radical driven cleavage of peptide backbone caused by matrix-assisted laser desorption/ionization in-source decay with low matrix-to-peptide molar ratios, *Int. J. Mass Spectrom.*, 422, 56-61 (2017).

9. K. Sakamoto, K. Sekimoto and M. Takayama, Collision-induced dissociation study of strong hydrogen-bonded cluster ions  $Y^-(HF)_n$  ( $Y=F, O_2$ ) using atmospheric pressure corona discharge ionization mass spectrometry combined with HF generator, *Mass Spectrom. (Tokyo)*, 2017; 6(1): A0063. DOI:10.5702/massspectrometry.A0063.

[学会発表] (計 2 件)

1. M. Takayama: Comprehensive top-down analysis of phosphorylated intact proteins using MALDI-ISD MS with 5,1-ANL matrix, the 25<sup>th</sup> Australian and New Zealand Society for Mass Spectrometry (2015.7.19-22).
2. 坂本賢也・高山光男: 負イオン HF クラスターの水素結合解離反応とプロトン移動反応、第 65 回質量分析総合討論会 (2017.5.17-19, つくば).

[図書] (計 0 件)

[産業財産権]

○出願状況 (計 1 件)

名称: 原子状水素発生器、原子状水素の製造方法および原子状水素の発生を確認する方法  
発明者: 高山光男・関本奏子  
権利者: 横浜市立大学  
種類: 特許  
番号: 特願 2015-111987  
出願年月日: 2015 年 6 月 2 日  
国内外の別: 国内

○取得状況 (計 1 件)

名称: イオン化装置及び質量分析装置  
発明者: 関本奏子・高山光男  
権利者: 横浜市立大学  
種類: 特許  
番号: 特許 6091620 号  
取得年月日: 2017 年 2 月 17 日  
国内外の別: 国内

[その他]

ホームページ等

6. 研究組織

- (1) 研究代表者  
高山光男 (TAKAYAMA Mitsuo)  
横浜市立大学・生命ナノシステム科学研究科・教授  
研究者番号: 10328635
- (2) 研究分担者
- (3) 連携研究者
- (4) 研究協力者